

УДК: 615.355; 577.151.5

**УДОСКОНАЛЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ
ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ З ВИКОРИСТАННЯМ
ШТАМУ *BACILLUS LICHENIFORMIS***

Мала В.В., Бєлих І.А., Самойленко С.І.

**Національний технічний університет
«Харківський політехнічний інститут», м. Харків, Україна**

Вступ. Значний інтерес до практичного використання ферментів в медицині обумовлений важливою роллю, яку вони відіграють у біологічних процесах, зокрема в процесах травлення їжі у людини і тварин. Протеази є однією із трьох великих груп промислово важливих ферментів, що складає близько 60 % від загальносвітового продажу ензимів, які використовуються в медичній, фармацевтичній та харчовій промисловості [1].

До недавнього часу основним джерелом одержання ферментів для потреб медицини залишались органи і тканини тварин – це є головним їх недоліком. Поява нових зоонозних захворювань, що передаються від сільськогосподарських тварин до людини, призвело до того, що ферментні препарати перестали відповідати вимогам безпеки [1]. Ферментативна активність таких препаратів залежить від якості вихідної сировини [2].

Альтернативою одержання лікарських препаратів на основі ферментів є мікробний синтез, який має ряд переваг: дозволяє створювати препарати з максимально високою активністю та регулювати синтез окремих ферментів за допомогою компонентів поживного середовища; розширити асортимент ферментів; високі швидкості розмноження мікроорганізмів, дають можливість прискорення технологічного процесу та використання доступних і недорогих субстратів [1, 4]. Також застосування ферментних препаратів мікробного походження виключає можливість зараження людини зоонозами [1].

Мета дослідження. Метою дослідження було удосконалення біотехнології одержання протеолітичних ферментів з використанням штаму *Bacillus licheniformis*.

Методи дослідження. Методи теоретичного дослідження, біохімічні, фізико-хімічні, мікробіологічні.

Об'єкт дослідження штам мікроорганізмів *Bacillus licheniformis*.

Основні результати. Продуцентами протеолітичних ферментів є штами родів відомих мікроорганізмів *Bacillus*. (*B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. mesentericus*), *Streptomyces* (*S. bradia*, *S. griseus*, *S. fradiospiralis*).

На основі проведеного літературного пошуку запропоновано удосконалення біотехнологічної схеми виробництва протеази з використанням як продуценту штаму мікроорганізмів *Bacillus licheniformis*. Перевагою даного штаму є можливість отримання стабільно високого рівня синтезу протеази з високою протеолітичною активністю [2, 4]. Культуру вносили в рідке поживне середовище в кількості 3 % від об'єму. Процес культивування продуцента проводили періодичним способом у колбах з робочим об'ємом 100 мл протягом 48 годин на качалці зі швидкістю перемішування 200 об/хв при температурі 37 °С, аерацію

проводили очищення повітрям. Основні компоненти поживного середовища: фітопептон, дріжджовий екстракт, кукурудзяна мука, соєва мука, глюкоза, кальцію хлорид, натрію хлорид, рН середовища підтримували відповідними буферними розчинами від 4 до 9. Досліджували протеолітичну активність культуральної рідини через 12, 24, 48 годин [2, 4].

За даними літератури відомо, що одні й ті ж джерела вуглецю можуть бути індукторами синтезу протеаз для одних продуцентів і інгібіторами – для інших. Оптимальним джерелом для синтезу протеаз бактеріями роду *Bacillus* є глюкоза, вміст якої складає 1 % від об'єму поживного середовища [4].

Температура культивування є досить вагомим фактором для визначення кількісних параметрів накопичення ферментів. Для представників роду *Bacillus* температура 37 °С є оптимальною для біосинтезу позаклітинних протеаз [2–4].

Ферментативна активність культуральної рідини залежить від значення величини рН розчину. Максимальна протеолітична активність проявлялась при значеннях рН від 8 до 9 та складала 80–100 ОД/мл відповідно [3, 4].

Висновки. Протеолітична активність штаму мікроорганізмів *Bacillus licheniformis* значною мірою залежить від складу поживного середовища, температури культивування, величини рН розчину. Показано, що найбільша загальна протеолітична активність культуральної рідини відмічалась через 24 години вирощування продуцента, при значеннях рН від 8 до 9.

Список літератури

1. Литвина Л.А. Экологически безопасные препараты / Л.А. Литвина // Проблемы сельскохозяйственной экологии. – Новосибирск. – 2000. – С. 53–54.

2. Мацелюх О.В. Протеолітичні ферменти мікроорганізмів / О.В. Мацелюх А.С. Левішко, Л.Д. Варбанець // Мікробіологічний журнал – 2010. – Т. 72, №4. – С. 56–73.

3. Петрова И.С. Определение протеолитической активности ферментных препаратов микробного происхождения / И.С. Петрова, М.Н. Винцюнайте // Прикладная биохимия и микробиология. – 1996. – 2, №1. – С. 322–327.

4. Ястребова О.В, Коробкова К.С. Фізико-хімічні властивості протеолітичного комплексу *Bacillus spp.* / О.В. Ястребова, К.С. Коробкова // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. –2012. – Вип. 33. – 174–

178. References (transliterated)

1. Litvina L.A. Ekologicheski bezopasnye preparaty / L.A. Litvina // Problemy selskokhoziaistvennoi ekologii. – Novosibirsk. – 2000. – S. 53–54.

2. Matseliukh O.V. Proteolitychni fermenty mikroorhanizmv / O.V. Matse-liukh A.S. Levishko, L.D. Varbanets // Mikrobiolohichnyi zhurnal – 2010. – T. 72, №4. – S. 56–73.

3. Petrova Y.S. Opredelenie proteoliticheskoi aktivnosti fermentnykh preparatov mikrobnoho proiskhozhdeniia / Y.S. Petrova, M.N. Vintsianaite // Prikladnaia biokhimiia i mikrobiolohiia. – 1996. – 2, №1. – S. 322–327.

4. Yastrebova O.V, Korobkova K.S. Fyzyko-khimichni vlastyvoli proteolitychnoho kompleksu *Bacillus srp.* / O.V. Yastrebova, K.S. Korobkova // Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu. Serii Biolohiia. –2012. – V. 33. – 174–178.